

Uji Anti Virus Senyawa Kurkumin dan PGV-0 pada Virus Dengue-2 dengan RT-PCR

Antiviral Test of Curcumin and PGV-0 on Dengue-2 Virus by RT-PCR

Dewi Marbawati^{1*}, Sitti Rahmah Umniyati²

¹Balai Litbang P2B2 Banjarnegara

Jl. Selamanik No 16 A Banjarnegara, Jawa Tengah, Indonesia

²Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada

*E_mail: dewimarba@yahoo.co.id

Received date: 25-01-2016, Revised date: 09-05-2016, Accepted date: 20-06-2016

ABSTRAK

Pengobatan Demam Berdarah Dengue (DBD) saat ini bersifat meringankan gejala yang muncul karena terapi spesifik dengan obat anti virus efektif belum ditemukan. Kurkumin dilaporkan mempunyai aktivitas anti virus, anti inflamasi, anti oksidan, anti parasit dan anti kanker. Kelemahan kurkumin yaitu peka terhadap pH dan cahaya sehingga dibuat senyawa analog kurkumin yaitu Pentagamavunon-0 (PGV-0), yang memiliki aktivitas lebih baik dari kurkumin. Tujuan penelitian ini adalah menilai anti virus kurkumin dan PGV-0 pada sel vero yang diinfeksi virus Dengue-2. Penelitian dilaksanakan di laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran UGM pada Bulan Januari-September 2013. Eksperimen ini dilakukan dengan RT-PCR untuk mendeteksi antigen virus Dengue-2. Virus Dengue-2 dipropagasi pada sel C636 kemudian diinfeksi pada sel vero, diberi kurkumin dan PGV-0 selama satu dan tiga hari. Hasil RT-PCR menunjukkan antigen Dengue-2 masih terlihat positif pada infeksi tiga 3 hari perlakuan kurkumin. Eksperimen ini mengindikasikan senyawa PGV-0 memiliki potensi antiviral lebih baik dari kurkumin.

Kata kunci: Dengue-2, Kurkumin, Pentagamavunon-0 (PGV-0), RT-PCR

ABSTRACT

Treatment of Dengue patients today are to relieve symptoms because specific therapies and effective anti-viral drugs have not been found. Curcumin is known has anti-viral activity, anti-inflammatory, anti-oxidant, anti-parasitic and anti-cancer. Curcumin has a weakness that is sensitive to acidity (pH) and light, so curcumin analogues that is pentagamavunon-0 (PGV-0) was made in order to obtain better anti viral activity. The purpose of this study was to determine the effect of curcumin and PGV-0 on vero cells infected by Dengue-2. This research was conducted in the laboratory of parasitology Faculty of Medicine of Gadjah Mada University in January-September 2013. Experimental studies using RT-PCR test to determine the presence of Dengue-2 antigen. Dengue-2 virus propagated in C636 cells and then infected in vero cells to further treated with curcumin and PGV-0. The incubation period of Dengue-2 infections performed for 1 and 3 days. The results of RT-PCR showed Dengue-2 antigen was seen in the 3-day infection period in the treatment of curcumin. This result indicates PGV-0 has potential antiviral better than curcumin.

Keywords: Dengue, Curcumin, Pentagamavunon-0 (PGV-0), RT-PCR

PENDAHULUAN

Demam Berdarah Dengue (DBD) merupakan penyakit virus yang sangat penting di daerah tropis dan subtropis di dunia. Penyakit ini merupakan masalah kesehatan masyarakat yang serius di Amerika, Asia dan Afrika.¹ Pengobatan Dengue saat ini bersifat suportif untuk meringankan gejala (*symptoms*) yang muncul, dan pemberian infus untuk menjaga kestabilan sirkulasi darah. Terapi spesifik dengan obat anti virus efektif belum ditemukan, dan vaksin virus Dengue secara komersial belum tersedia. Banyak

lahan penelitian yang menantang dapat dilakukan karena kompleksitas dari respon imun terhadap Dengue. Sejumlah penelitian melaporkan terdapat korelasi langsung antara jumlah virus Dengue dalam darah selama fase viremia dengan tingkat keparahan DBD.² Oleh karena itu, penurunan *viral load* menggunakan antivirus efektif dapat mencegah komplikasi Demam Berdarah Dengue (DBD) dan *Dengue Shock Syndrome* (DSS).³

Dua-pertiga penduduk dunia menggunakan terapi alternatif, termasuk tanaman obat, sebagai sumber utama untuk perawatan kesehatan. Obat-obatan tradisional alami diyakini lebih rendah

efek sampingnya karena berasal dari tumbuh-tumbuhan yang dapat dimakan.⁴ Sejumlah tanaman dilaporkan memiliki aktivitas anti virus yang potensial.⁵

Kurkumin merupakan kandungan utama dari rimpang *Curcuma longa* yaitu tanaman obat yang banyak digunakan di Indonesia, dan salah satu senyawa yang banyak dipelajari kemanfaatannya. Beberapa penelitian menunjukkan kurkumin mempunyai aktivitas anti inflamasi, anti oksidan, anti parasit, anti virus and anti kanker.⁶ Aktivitas anti virus kurkumin misalnya menghambat infeksi HIV-1.⁷

Interaksi spesifik kurkumin dengan protein virus yaitu integrase dan protease berdasarkan peran kurkumin dalam menghambat replikasi virus. Kurkumin dilaporkan menghambat *Herpes Simplex Virus* (HSV) pada ekspresi gen dengan mengganggu perekrutan RNA polimerase II di gen promoter.⁶ Dalam studi lainnya, kurkumin menghambat beberapa jalur sinyal intraselular, termasuk jalur MAPK, phosphoinositide 3-kinase /protein kinase B (PI3K/PKB), dan faktor *nuclear kappa B* (NF κ B) dan disregulasi *Ubiquitin Proteasome System* (UPS).⁸

Walaupun aktivitas farmakologi kurkumin cukup banyak, kurkumin peka terhadap pH dan cahaya.^{9,10} Hal ini mendasari pembuatan beberapa senyawa analog kurkumin yang diharapkan masih tetap memberikan aktivitas sama dengan kurkumin tetapi dengan kualitas lebih baik, yaitu berefek lebih besar dan aman.

Pentagamavunon-0 (PGV-0), senyawa analog kurkumin dikembangkan untuk mendapat struktur yang lebih stabil dan aktivitas lebih baik dibanding kurkumin. Struktur PGV-0 lebih datardibanding kurkumin dan terbukti mampu menghambat pertumbuhan sel HeLa (sel kanker serviks), myeloma dan raji.¹¹ Berdasarkan gambaran tersebut, PGV-0 memiliki potensi besar untuk dikembangkan sebagai senyawa obat baru.

Obat anti virus Dengue diharapkan aman, murah, stabil dan efektif terhadap semua serotipe virus Dengue. Senyawa yang biasanya digunakan untuk anti virus umumnya diuji sitotoksik terlebih dahulu terhadap sel yang digunakan sebagai inang virus. Setelah didapatkan dosis yang tidak berefek toksik terhadap sel inang dilanjutkan dengan uji antivirus yang dapat diketahui melalui *uji plaque*, imunositokimia, RT-PCR (*Reverse Transcriptase*

Polymerase Chain Reaction) atau uji yang lain. Teknik RT-PCR dikenal cepat dan sensitif untuk mendeteksi RNA virus dari spesimen darah, jaringan tubuh manusia dan lain sebagainya. Metode RT-PCR relatif lebih cepat dibandingkan metode pemeriksaan lain misal isolasi virus. Oleh sebab itu dilakukan penelitian ini untuk menilai antivirus kurkumin dan PGV-0 terhadap virus Dengue dengan RT-PCR.

METODE

Penelitian eksperimental ini dilaksanakan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran UGM pada bulan Januari-September 2013. Bahan uji adalah bubuk kurkumin (C1386 Sigma), dengan sinonim: -1,7-bis (4-hydroxy-3-metoksifenil) -1,6-heptadiene-3,5-dion, diferuloylmethane dan Pentagamavunon (PGV)-0 dengan sinonim 2,5-bis (4-hydroxy-3-metoksibenzilidin) cyclopentanone yang diperoleh dari Fakultas Farmasi UGM. Konsentrasi kurkumin yang digunakan adalah 6,25 ppm, sedangkan PGV-0 adalah 1,5625 ppm sesuai uji sitotoksik yang telah dilakukan sebelumnya.¹²

Propagasi virus pada sel C636

Virus Dengue dipropagasi pada sel C636 (*cell line* dari klon *Aedes albopictus*) yang ditumbuhkan pada *Minimum Essential Medium* (MEM) dengan 10% *Fetal Bovine Serum* (FBS) (Gibco, NY, USA) dan diinkubasi pada suhu 28°C tanpa CO₂. Propagasi virus Dengue dilakukan sesuai dengan referensi Kuno 1990 dalam Nurminha 2011.¹³ Virus Dengue-2 diperbanyak pada sel C636 dan dipanen setelah efek sitopatik (*Cytopathic effects*) terlihat.

Infeksi virus Dengue pada sel vero

Sel vero (*African green monkey kidney*) bisa digunakan untuk mengevaluasi aktivitas anti Dengue senyawa dan untuk pengembangan vaksin Dengue.^{14,15} Sel ini digunakan untuk uji anti virus dalam penelitian karena berasal dari sel mamalia yang hubungannya lebih dekat dengan manusia. Sel vero ditumbuhkan pada media M-199, kemudian ditambah 10 % FBS dan diinkubasi pada suhu 37°C dengan 5 % CO₂. Sel vero dengan kepadatan 5 x 10⁵ sel per *well* (sumuran) ditumbuhkan dalam *well plate* yang diberi *deck glass* yang dilapisi *poly elysin* sebagai tempat

menempelnya sel. *Plate* yang digunakan masing-masing untuk kelompok inkubasi 1 hari dan 3 hari. Uji coba dilakukan pada 1) kelompok yang diinfeksi virus Dengue-2 yang diberi senyawa kurkumin dan diinkubasi 1 hari; 2) kelompok diinfeksi virus Dengue-2 yang diberi senyawa PGV-0 dan diinkubasi 1 hari; 3) kontrol positif (sel diinfeksi Dengue 2 dan diinkubasi 1 hari) dan kontrol negatif (sel tidak diinfeksi dan diinkubasi 1 hari). Pembagian kelompok pada sel yang diinfeksi virus Dengue-2 yang diinkubasi selama tiga (3) hari juga sama dengan kelompok yang diinfeksi virus Dengue-2 yang diinkubasi 1 hari. Masing-masing uji dibuat 3 ulangan. Di akhir perlakuan cairan/supernatan dari masing-masing sumur digunakan untuk pemeriksaan RT-PCR.

Masa inkubasi infeksi virus Dengue-2 pada sel vero adalah 1 dan 3 hari. Pemilihan 1 dan 3 hari inkubasi infeksi dimaksudkan untuk

mengetahui efek kurkumin dan PGV-0 jika diberikan pada awal infeksi dan fase lebih lanjut dari infeksi. Konsentrasi kurkumin dan PGV-0 yang diberikan sesuai dengan hasil uji sitotoksik yang sudah dilakukan sebelumnya.¹² Kedua senyawa tersebut diketahui mampu menurunkan nilai *infection rate* akibat infeksi Dengue-2 pada sel vero melalui pemeriksaan imunositokimia.¹²

Deteksi antigen Dengue dengan RT-PCR¹⁶

Pemeriksaan RT-PCR dimulai dengan isolasi RNA virus Dengue menggunakan kit manual *High Pure Viral Nucleic Acid Kit (Roche Diagnostic GmbH, Mannheim Germany, cat no.11 858 874 001)*. Kemudian dilanjutkan dengan proses RT-PCR (*Kit Superscript™, III One Step RT-PCR System with Platinum, Invitrogen cat no 125 74-026*). Primer spesifik serotipe yang digunakan adalah seperti pada tabel berikut.

Tabel 1. Primer untuk Pemeriksaan *One-Step RT-PCR*¹⁶

Serotipe Virus	Primer	Sekuens Primer	Posisi Primer	Ukuran pita
	Dcon	5'- AGT TGTTAGTCTACGTGGACCGACA-3'	1 – 25	
DEN 2	D2	5'- CGCCACAAGGGCCATGAACAG-3'	231 – 251	251

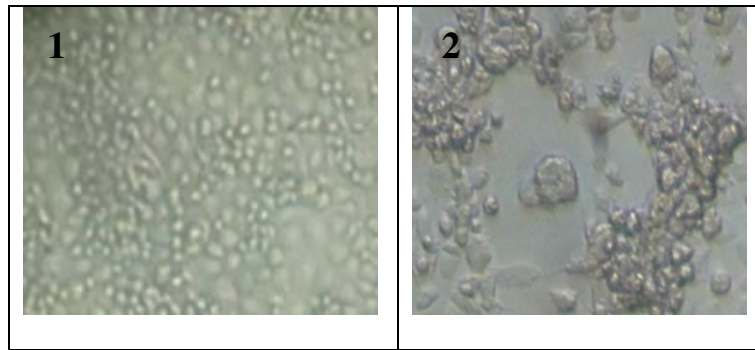
Langkah kerja pemeriksaan RT-PCR adalah PCR mix yang dibuat dalam tabung 1,5 ml bebas nuklease dan dikerjakan di dalam es dengan komposisi: 2x *reaction mix* sebanyak 12,5 µl, Superscript™ III RT/Platinum®Taq Mix sebanyak 0,5 µl, MgSO₄ sebanyak 2 µl, primer Dcon (*forward*) sebanyak 1 µl, primer D2 (*reverse*) sebanyak 1 µl, RNase free water sebanyak 3 µl dan RNA sebanyak 5 µl, total volume berkisar 25 µl. Komponen-komponen tersebut dipastikan berada di dasar tabung dengan cara disentrifus. PCR mix dimasukkan ke dalam *thermal cycler*, kemudian alat dijalankan sesuai program sebagai berikut: (i) sintesis cDNA 1 siklus: 60°C selama 45 menit; (ii) predenaturasi 1 siklus: 94°C selama 2 menit; (iii) amplifikasi 30-35 siklus: 94°C selama 30 detik (denaturasi), 60°C selama 30 detik (*annealing*), 68°C selama 1 menit (ekstensi); (iv) ekstensi akhir 1 siklus: 68°C selama 5 menit. Produk RT-PCR yang dihasilkan dielektroforesis pada gel agarose 1,5 % dan 100 bp *ladder* digunakan sebagai marker untuk menganalisis besar produk PCR.

Analisis Data

Analisis data berupa analisis deskriptif, dilakukan dengan melihat hasil elektroforesis. Ukuran pita positif yang diharapkan adalah 251 bp (Dengue-2).

HASIL

Propagasi virus Dengue dilakukan pada sel C636 yaitu sel turunan dari *Aedes albopictus* (klon terseleksi dari *Ae. albopictus*). Gambaran sel C636 yang diinfeksi virus Dengue-2 dapat dilihat pada Gambar 1. Gambar 1.1 memperlihatkan gambaran sel C636 yang konfluen berbentuk bulat terang atau segi empat tidak beraturan. Gambar 1.2 nampak adanya CPEs yang muncul setelah sel diinfeksi 3 hari. Pada gambar tersebut terlihat adanya *giant* sel yaitu beberapa sel berkumpul menjadi satu dan membentuk satu sel besar yang nantinya diikuti oleh lisisnya sel.

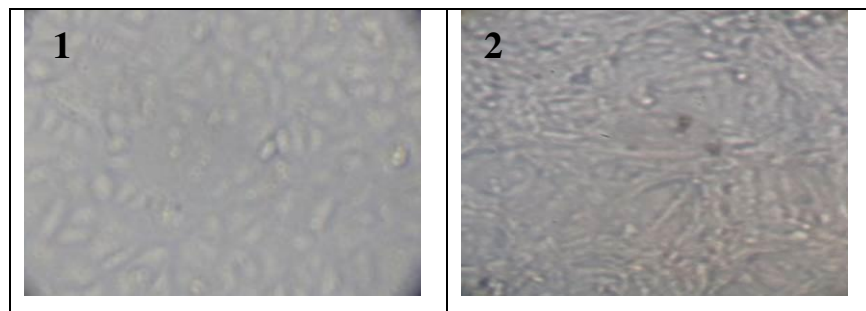


Gambar 1. Sel C636 (Perbesaran 1000x)

- 1.1 Sel C636 yang konfluen
1.2 Sel C636 yang diinfeksi virus Dengue-2

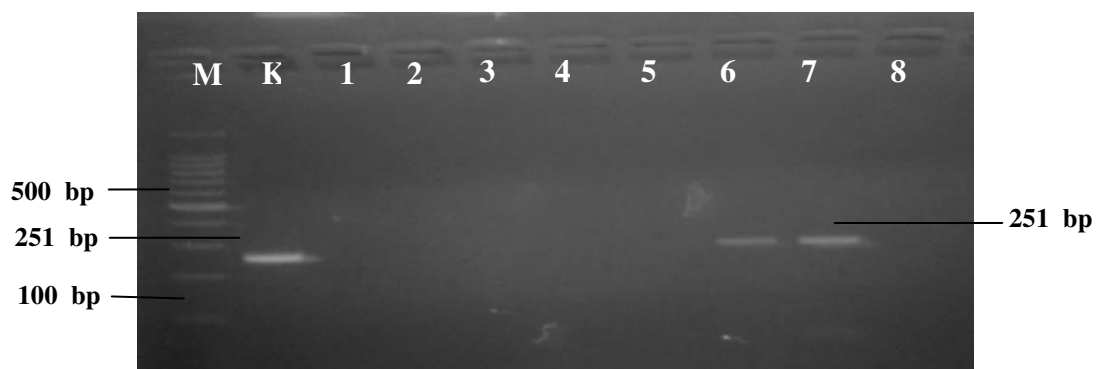
Gambaran sel vero yang diinfeksi oleh virus Dengue tampak pada gambar 2. Gambar 2.1 memperlihatkan sel vero konfluen tampak berbentuk daun kecil. Pada pengamatan infeksi tiga hari terlihat beberapa sel sudah mulai menggerombol dan bentuknya tidak normal namun efek sitopatik tidak terlihat (Gambar 2.2).

Pemeriksaan RT-PCR dengan metode *One Step RT-PCR* berhasil mendeteksi serotipe virus Dengue-2 pada ukuran pita yang diharapkan yaitu 251 bp.¹⁶ Gambaran hasil elektroforesis produk RT-PCR pada penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 2. Sel Vero

- 2.1 Sel vero konfluen
2.2 Sel vero yang diinfeksi virus Dengue-2 selama 3 hari



Gambar 3. Foto Hasil Elektroforesis Produk RT-PCR dari Sel Vero yang Terinfeksi Virus Dengue-2 dan Diberi Perlakuan Kurkumin dan PGV-0. M: marker 100 bp ladder, K: kontrol positif virus Dengue-2, Lane 1: kontrol negatif virus inkubasi 1 hari (tanpa infeksi), Lane 2: kontrol positif virus Dengue-2 inkubasi 1 hari, Lane 3: inkubasi 1 hari perlakuan kurkumin, Lane 4: inkubasi 1 hari perlakuan PGV-0, Lane 5: kontrol negatif virus inkubasi 3 hari, Lane 6: kontrol positif virus Dengue-2 inkubasi 3 hari, Lane 7: inkubasi 3 hari perlakuan kurkumin, Lane 8: inkubasi 3 hari perlakuan PGV-0.

Pemeriksaan RT-PCR dapat mendeteksi virus Dengue-2 pada sel vero yang diinfeksi pada masa inkubasi 3 hari (kontrol positif virus) dan sampel perlakuan infeksi virus tiga hari yang diberi perlakuan kurkumin. Pada infeksi 1 hari (*Lane* 1 dan 4), baik pada kontrol virus maupun perlakuan dengan kurkumin dan PGV-0 belum terlihat adanya positif antigen Dengue-2 dengan pemeriksaan RT-PCR. Hal ini disebabkan titer virus yang belum mencukupi untuk terlihat positif pada pembacaan elektroforesis. Pada infeksi 3 hari (*Lane* 6, 7 dan 8) terlihat band/pita positif hanya pada *Lane* 6 (kontrol positif virus Dengue-2 inkubasi 3 hari) dan *Lane* 7 (infeksi Dengue-2 tiga (3) hari dengan perlakuan kurkumin), yang mengindikasikan kurkumin tidak berhasil bekerja sebagai anti viral Dengue-2.

PEMBAHASAN

Kurkumin diketahui dapat menurunkan infeksi beberapa virus seperti virus hepatitis B, virus hepatitis C, virus *herpes simplex*, human *immunodeficiency* virus, dan virus *Japanese encephalitis*.^{8,17} Mekanisme penghambatan untuk masing-masing virus bisa berbeda-beda misal melalui sistem *ubiquitin-proteasome*,¹⁷ transkripsi, ekspresi gen dan replikasi virus.¹⁸

Secara *in-vitro* virus Dengue dapat berkembang biak pada berbagai sel, baik sel mamalia maupun insekta. Efek sitopatogenik yang timbul sangat bervariasi mulai dari tanpa efek sitopatogenik sampai yang nyata. Dalam penelitian ini propagasi virus Dengue-2 dilakukan pada sel C636. Sel ini merupakan sel yang banyak digunakan untuk menumbuhkan arbovirus dalam media kultur sel. Sel C636 terbukti memiliki sensitivitas diinfeksi virus Dengue,¹⁹ mudah penanganannya, memiliki stabilitas dan memiliki suhu optimal untuk pertumbuhan, serta lebih mudah dibanding sel mamalia seperti BHK-21, LLC-MK2 dan sel vero.¹⁹

Proses propagasi virus Dengue pada sel C636 dimulai dengan menempelnya virus Dengue pada reseptor permukaan sel melalui *envelope glycoprotein* (E) yang ada pada permukaan membran virus. Proses replikasi virus yang berlangsung di dalam sitoplasma sel C636 memperlihatkan efek sitopatik mulai nampak pada hari ke-3 atau ke-4 yang ditandai munculnya *giant*

sel.²⁰ Lisis sel tampak pada hari ke-8 atau ke-10. Bila infeksi dilakukan dari hasil pasase sel terinfeksi, *giant* sel bisa muncul lebih awal karena virus lebih infeksi. Hasil propagasi mendukung penggunaan sel C636 sebagai salah satu *cell line* yang baik untuk perbanyakan Dengue.¹³

Dibandingkan propagasi virus pada sel C636, kemampuan menginfeksi virus Dengue-2 terhadap sel vero terlihat lebih rendah. Hal ini terlihat dari hasil infeksi hari ketiga, efek sitopatik tidak terlihat. Pada beberapa sel, Dengue *plaque* terbentuk relatif lambat (5-6 hari)²¹ dan sering tidak diikuti kematian sel atau munculnya CPEs. Sel yang terinfeksi Dengue-2 menunjukkan berbagai efek sitopatik (CPE) terutama setelah 72 jam pasca infeksi.²²

Proses infeksi virus pada sel dimulai dengan menempelnya virus infeksi pada reseptor yang ada di permukaan sel. Aktivitas virus pada hari pertama infeksi masih sangat sedikit bahkan cenderung tidak ada. Aktivitas virus yang belum terlihat ini dapat disebabkan virus belum matang, sehingga tidak mampu menginfeksi sel. Virus yang belum matang tersusun atas protein E dan prM, membran lipid dan nukleokapsid. Seiring bertambahnya waktu inkubasi, aktivitas virus meningkat. Virus mulai memasuki fase eksponensial, yaitu fase dimana virus mengalami aktivitas yang signifikan yaitu mulai dari hari ke-2 sampai hari ke-5. Pada RT-PCR penelitian ini, kontrol positif virus infeksi hari ketiga menunjukkan positif Dengue-2. Seiring bertambahnya waktu inkubasi, maka virus yang matang semakin banyak, sehingga sel yang terinfeksi juga bertambah.²³ Hari ke-6 dan ke-7 seluruh sel telah terinfeksi virus, dan virus mengalami fase stasioner dimana kecepatan virus yang menginfeksi sel menurun dan sel yang mati bertambah. Jika dilakukan inkubasi lebih lama, virus akan mengalami penurunan aktivitas dan mengalami kematian.

Penambahan kurkumin dan PGV-0 pada sel vero yang diinfeksi virus Dengue dapat menurunkan infeksi virus Dengue melalui pemeriksaan imunositokimia.¹² Reaktivitas kurkumin termasuk senyawa turunannya mampu berinteraksi dengan komponen seluler seperti DNA, membran lipid dan protein seluler lainnya yang akan mempengaruhi proses biologi di dalam

sel seperti siklus sel, metabolisme dan apoptosis. Dihubungkan dengan sifat lipofiliknya, kurkumin mudah berhubungan dengan sel dan memodulasi faktor transkripsi nuklear ataupun protein kinase, yang menyebabkan *caspase-activated* DNase memasuki nukleus dan mendegradasi DNA.²⁴ Efek antivirus kurkumin melalui mekanisme yang berbeda-beda yaitu penghambatan langsung proses replikasi virus atau penekanan suatu sinyal seluler untuk replikasi virus,²⁵ menekan replikasi virus dalam sel dengan melibatkan proteasome inhibitor. Dalam siklus replikasi virus, endositosis memegang peranan penting dalam proses penetrasi virus ke dalam sel. Proses endositosis tersebut diregulasi oleh sistem *ubiquitin-proteasome*.¹⁷

Pada infeksi satu hari, baik pada kontrol virus maupun perlakuan dengan kurkumin dan PGV-0 belum terlihat adanya positif antigen Dengue-2 dengan pemeriksaan RT-PCR karena titer virus yang belum mencukupi dalam inkubasi infeksi Dengue-2. Penelitian replikasi virus Dengue pada sel C636 dapat dideteksi dengan baik melalui pemeriksaan qPCR pada hari keempat.²⁶ Penelitian pada nyamuk melaporkan RNA virus Dengue-3 pada nyamuk infeksius dengan masa inkubasi 1-4 hari belum dapat terdeteksi menggunakan RT-PCR, meskipun telah dilakukan pemekatan konsentrasi RNA.²⁷ *Ribonucleic acid* (RNA) virus Dengue-3 baru bisa terdeteksi setelah infeksi 5 hari.²⁷

Kelemahan pada penelitian ini adalah tidak dilakukan pengukuran titer awal virus yang diinfeksi ke sel vero, sehingga tidak dapat diketahui apakah titer virus yang diinfeksi sudah mencapai titer minimal yang dapat terdeteksi oleh pemeriksaan RT-PCR pada inkubasi infeksi satu hari.

Hasil positif antigen Dengue-2 diperlihatkan pada kontrol virus infeksi tiga hari dan infeksi tiga hari perlakuan kurkumin. Sedangkan infeksi virus Dengue-2 tiga hari yang diberi perlakuan PGV-0 menunjukkan hasil negatif. Konsentrasi kurkumin dan PGV-0 yang digunakan pada uji anti viral sesuai uji sitotoksik yang dilakukan sebelumnya adalah 6,25 ppm dan 1,5625 ppm.¹² Hal tersebut mengindikasikan PGV-0 memiliki daya anti virus Dengue-2 lebih baik dari kurkumin. Daya anti-virus mungkin dipengaruhi struktur kurkumin dan PGV-0 pada rantai tengahnya, sedang rantai

ujungnya sama yaitu terdiri dari gugus terminal aromatik dengan gugus parahidroksi dan metoksi. Kurkumin memiliki gugus alifatik β diketon (asetil aseton), gugus metilen aktif, rantai tengahnya lebih panjang dibandingkan dengan PGV-0 sehingga jumlah ikatan rangkapnya lebih banyak. Pentagamavunon-0 memiliki gugus monoketon siklik (siklopentanon), tidak terdapat gugus metilen, terjadi pemendekan rantai tengah sehingga jumlah ikatan rangkapnya lebih sedikit dan memiliki struktur yang kaku karena berada dalam keadaan flat. Struktur yang kaku membuat PGV-0 lebih mudah berinteraksi dengan bakteri atau virus dibanding struktur kurkumin yang lebih lentur.

KESIMPULAN

Reverse Transcriptase PCR tidak mampu mendeteksi adanya infeksi virus Dengue-2 pada sel vero pada infeksi hari pertama, baik pada kontrol maupun dengan penambahan senyawa kurkumin dan PGV-0. Hasil positif antigen Dengue-2 hanya terdeteksi pada kontrol infeksi tiga hari, dan perlakuan penambahan kurkumin infeksi Dengue-2 tiga hari. Penelitian ini mengindikasikan PGV-0 memiliki kemampuan antivirus lebih baik terhadap Dengue-2 dibanding kurkumin.

SARAN

Perlu dilakukan kajian lebih lanjut dengan metode uji yang berbeda misalnya *Real Time* PCR (kuantitatif PCR) dengan memperhitungkan pengukuran titer awal virus dan titer virus setelah penambahan senyawa uji (kurkumin dan PGV-0) sehingga secara kuantitatif terlihat senyawa yang lebih efektif dari perhitungan titer virusnya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Dr. Sardjiman, Dr. Risfah Yulianty dan segenap staf laboratorium Parasitologi Universitas Gadjah Mada (UGM) atas bantuan selama pelaksanaan kegiatan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

1. Carabali M, Hernandez LM, Arauz MJ, Villar LA, Ridde V. Why are people with dengue dying? A scoping review of determinants for dengue

- mortality. BMC Infectious Diseases. 2015;15:301.
2. Fox A, Minh Hoa LN, Simmons CP, Wolbers M, Wertheim HFL, Khuong PT, et al. Immunological and viral determinants of dengue severity in hospitalized adults in Ha Noi. Vietnam. Plos neglected tropical Diseases. 2011;5:3.
3. Zandi K, Teoh BH, Sam SS, Wong PF, Mustafa MR, Abubakar S. Novel antiviral activity of baicalein against dengue virus. BMC Complementary and Alternative Medicine. 2012;12:214.
4. Han H, He W, Wang W, Gao B. Inhibitory effect of aqueous dandelion extract on HIV-1 replication and reverse transcriptase activity. BMC Complement Alternat Med. 2011;11:112.
5. Tang LI, Ling AP, Koh RY, Chye SM, Voon KG. Screening of anti-dengue activity in methanolic extracts of medicinal plants. BMC Complement Altern Med. 2012;12:3.
6. Bose S, Panda AK, Mukherjee S, Sa G. Curcumin and tumor immune-editing: resurrecting the immune system. Cell Div. 2015;10:6
7. Gupta SC, Patchva S, Aggarwal BB. Therapeutic roles of curcumin: lessons learned from clinical trials. AAPS J. 2013;15(1):195–218.
8. Padilla-SL, Rodriguez A, Gonzales MM, Gallego-G JC, Castano-O J. Inhibitory effects of curcumin on dengue virus type-2 infected cells in vitro. Arch Virol. 2014;159(3):573-9.
9. Sarkar A, De R, Mukhopadhyay AK. Curcumin as a potential therapeutic candidate for *Helicobacter pylori* associated diseases. World J Gastroenterol. 2016;22(9):2736-48.
10. Mondal S, Ghosh S, Moulik SP. Stability of curcumin in different solvent and solution media: UV-visible and steady-state fluorescence spectral study. J Photochem photobiol B. 2016;6(158):212-8.
11. Meiyanto E, Supardjan, Da'I M, Agustina, D. Efek antiproliferasi pentagamavunon-0 terhadap sel kanker payudara T47D. Jurnal Kedokteran Yarsi. 2006;14(1):11-5.
12. Marbawati D. Perbandingan potensi antiviral pentagamavunon-0 dan kurkumin terhadap virus Dengue. Tesis. Program Studi Ilmu Kedokteran Tropis. Yogyakarta: Universitas Gadjah mada; 2013.
13. Nurminha. Karakterisasi dan aplikasi antibodi monoklonal WDSSB5 untuk deteksi virus Dengue pada sel C6/36 dengan metode imunositokimia. Tesis. Program Studi Ilmu Kedokteran Tropis. Yogyakarta: Fakultas Kedokteran UGM; 2011.
14. Huang CY, Kinney RM, Livengood JA, Bolling B, Arguello JJ, Luy BE, et al. Genetic and phenotypic characterization of manufacturing seeds for a tetravalent dengue vaccine (DENVax). PLoS Negl Trop Dis. 2013;7.
15. Lee HC, Yen YT, Chen WY, Wu-Hsieh BA, Wu SC. Dengue type 4 live-attenuated vaccine viruses passaged in vero cells affect genetic stability and dengue-induced hemorrhaging in mice. PLoS ONE. 2011;6.
16. Yong YK, Thayan R, Chong HT and Sekaran SD. Rapid detection and serotyping of Dengue virus by multiplex RT-PCR and real time SYBR green RT-PCR. Singapore Med J. 1997;(48):662-68.
17. Dutta K, Ghosh D, Basu A. Curcumin protects neuronal cells from *Japanese encephalitis* virus-mediated cell death and also inhibits infective viral particle formation by dysregulation of ubiquitin-proteasome system. J Neuroimmune Pharmacol. 2009;4:328–37.
18. Rechtman MM, Har-Noy O, Bar-Yishay I, Fishman S, Adamo-vich Y, Shaul Y et al. Curcumin inhibits hepatitis B virus via down-regulation of the metabolic coactivator PGC-1 α . FEBS Lett. 2010;584:2485–90.
19. Sintowati R. Karakterisasi dan aplikasi antibodi monoklonal DSSE10 untuk deteksi infeksi virus dengue pada sel C636 dengan metode immunofloresens. Tesis. Program Studi Ilmu Kedokteran Tropis. Yogyakarta: Universitas Gadjah mada; 2011.
20. Kato F, Hishiki T. Dengue virus reporter replicon is a valuable tool for antiviral drug discovery and analysis of virus replication mechanism. Viruses. 2016;8(5):122.
21. Kato F, Ishida Y, Oishi S, Fujii N, Watanabe S, Vasudevan SG. Novel antiviral activity of bromocriptine against dengue virus replication. Antiviral Research. 2016;131:147-7.
22. Rothan HA, Zulqarnain M, Ammar YA, Tan EC, Rahman NA and Yusof R. Screening of antiviral activities in medicinal plants extracts against dengue virus using dengue NS2B-NS3 protease assay. Tropical Biomedicine. 2014;31(2):286–96.
23. Mutia K. Optimasi uji imunofloresensi untuk mendeteksi dan membedakan serotipe virus dengue. Skripsi. Fakultas matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Departemen Biologi, Universitas Indonesia: Depok; 2011.

24. Vallianou NG, Evangelopoulos A, Schizas N, Kazaziz C. Potential anticancer properties and mechanism of action of curcumin. *Anticancer Res.* 2015;35(2):645-51.
25. Chen TY, Chen DY, Wen HS, Ou JL, Chiou SS, Chen JM, et al. Inhibition of enveloped viruses infectivity by curcumin. *PLOS ONE.* 2013;8(5).
26. Silva ARA, Morais SM, Marques MMM, Lima DM, Santos SCC, Almeida RR, Vieira IGP, Guedes MIF. Antiviral activities of extracts and phenolic components of two spondias species against dengue virus. *The Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases,* 2011;17(4):406-13.
27. Widiastuti D. Deteksi infeksi virus Dengue-3 pada nyamuk *Aedes aegypti* dengan teknik imunisitokimia menggunakan antibodi monoklonal DSSE10. Tesis. Program Studi Ilmu Kedokteran Tropis. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada; 2011.